Aus der Klinik für Radiologie und Nuclearmedizin
des Fachbereiches Klinische Medizin Steglitz
der Freien Universität Berlin,
Nuclearmedizinische Abteilung
Leiter: Prof. Dr. med. Karl Oeff

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von ^{35}S-Thioacetamid bei der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinrich Emde
aus Korbach

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0079

Aus der Klinik für Radiologie und Nuclearmedizin
des Fachbereiches Klinische Medizin Steglitz
der Freien Universität Berlin,
Nuclearmedizinische Abteilung
Leiter: Prof. Dr. med. Karl Oeff

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von ^{35}S-Thioacetamid bei der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinrich Emde
aus Korbach

Referent: Professor Dr. O e f f

Korreferent: Professor Dr. R i e t b r o c k

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 19.7.1973

INHALTSVERZEICHNIS

I EINLEITUNG

1.) Experimentelle Leberschädigung
2.) TAA-Stoffwechsel

II AUFGABEN DER VORLIEGENDEN ARBEIT

III MATERIAL UND METHODEN

1.) Substanzen
2.) Tiere
3.) Versuchsanordnung
   a) Normothermie
   b) Hypothermie
4.) Aufarbeitung der Proben
5.) Messung der Radioaktivität

IV ERGEBNISSE

1.) TAA-^{35}S Applikation, Versuchsdauer 100 Minuten
2.) TAA-^{35}S Applikation, Versuchsdauer 4 Stunden
3.) TAA-^{35}S Applikation, Versuchsdauer 24 Stunden
4.) TAA-^{35}S Applikation, Unterkühlung Versuchsdauer 4 und 24 Stunden
5.) TAA-^{35}SO Applikation, Versuchsdauer 100 Minuten 4 und 24 Stunden
6.) Histologische Untersuchungen nach TAA-SO Applikation

V DISKUSSION

VI RECHENBEISPIEL

VII ZUSAMMENFASSUNG

VIII LITERATURVERZEICHNIS

I EINLEITUNG

1.) Experimentelle Leberschädigung

Thioacetamid (TAA), als lebertoxische Substanz, wurde erstmals von FITZHUGH und NELSON 1948 (15) beschrieben. Seitdem haben sich viele Forschergruppen mit TAA, seinem Stoffwechsel und seinen Wirkungen auf die Zelle beschäftigt und ganz unterschiedliche Wege eingeschlagen. Histologische Untersuchungen von Rattenlebern zeigten nach kurzzeitiger subakuter Vergiftung eine Schwellung von Kern und Nucleolus und eine Abnahme der cytoplasmatischen Basophilie (7, 13, 22, 26, 31-32, 57-59). Bei chronischer Verabreichung von TAA in kleinen Dosen kam es zu cirrhotischem Umbau in der Leber, zu Adenomen, Carcinomen und Wucherungen der Gallengänge (7, 9, 13,15, 18, 20, 38, 45, 61). Bei der akuten Vergiftung fielen im histologischen Präparat Nekrosen auf, die von den Leberläppchenzentren ausgingen und dosisabhängig mehr oder weniger weit in die Peripherie reichten (1, 7-9, 13, 17, 47-50). Die Zellen am Übergang des nekrotischen Bezirkes zum ungeschädigten Leberparenchym zeigten das Bild der subakuten Vergiftung. Die morphologisch sichtbaren Veränderungen der Leberzelle gaben Anlaß zu Untersuchungen, die sich mit dem Nukleinsäurestoffwechsel beschäftigten. Es wurde eine vermehrte Synthese von RNS im Kern und Nucleolus und eine Abnahme von RNS im Cytoplasma gefunden (3, 4-5, 9, 23-25, 30, 34-35, 55, 57-60, 63). Diese Abnahme wurde als eine Migrationshemmung der im Kern gebildeten RNS aufgefaßt (35, 60, 63). Der Mechanismus ist noch nicht bekannt, aber ein Effekt soll hier Erwähnung finden, über den später noch etwas gesagt werden wird. Die Actinomycin D-Wirkung auf den Nucleolus, die durch eine RNS-Polymerasehemmung hervorgerufen wird, läßt sich durch TAA-Gabe in einem bestimmten Zeitraum unterdrücken (27, 35, 68).

Elektronenmikroskopische und elektronenhistochemische Untersuchungen der Leberzelle haben Strukturveränderungen im Kern und Cytoplasma gezeigt, die die bisher gemachten

Aussagen unterstreichen. Eine Anhäufung von RNS im Kern, ein Verlust an rauhem Endoplasmatischem Reticulum (EPR), eine Zunahme an glattem EPR, teilweise durch Umwandlung, teilweise durch Neubildung und ein Glycogenschwund wurden beobachtet (3. 34, 67).
Der Einfluß von TAA in enzymatische Abläufe der Zelleistung ist vielgestaltig und läßt die komplizierten Zusammenhänge des Stoffwechsels erkennen, den die Leberzelle durchführt (6, 9-11, 16, 19, 29, 37, 39-42, 46, 51-54, 62, 64-69). Neben der Leber wurden auch andere Organe auf direktem oder indirektem Wege geschädigt. Eine Beeinträchtigung der Nieren- und Schilddrüsenfunktion wurde beschrieben (9,20, 26, 28). Einen Intensionstremor, bei gleichzeitiger Kupferverminderung im Gehirn, konnten STERN und KULJAK (56) beobachten. WIEDERMANN et al. (71) fanden bei jungen Ratten im Serum komplementbindende und im Ribosomenlatextest nachweisbare Faktoren.
Um weiteren Einblick in den Wirkungsmechanismus zu bekommen, wurde mit verschiedenen Substanzen versucht, Schäden nach TAA zu mindern oder zu vermeiden. Erfolge konnten mit Kupfer (14), Strophanthin G (21), Phenergan (16, 40), Actinomycin D (27, 68) und einer Eiweißdiät mit hohem Methionin- oder Guanosingehalt (20)erzielt werden. Adrenalectomie 3 Wochen vor TAA-Gabe verminderte die Nekrosen (16, 40), Hypothermie zögerte sie hinaus (33) oder verhinderte sie ganz (48, 50). Auch ein relativer Vitamin-C-Mangel hatte beim Meerschweinchen eine geringere Bindegewebsbildung nach TAA zur Folge (52).

2.) TAA - Stoffwechsel

Nur wenige Arbeitsgruppen haben sich mit dem Stoffwechsel von TAA im Organismus beschäftigt. NYGAARD, ELDJARN und NAKKEN (36) berichteten 1954 von zwei Versuchsreihen an Ratten nach subcutanen TAA-^{35}S-Gaben. Sie bestimmten im Urin und Organen die ^{35}S-Aktivität von TAA, freiem und verestertem Sulfat und organisch gebundenem Schwefel. Über 80 % der applizierten Aktivität wurde mit dem 24 Stunden Urin wieder ausgeschieden, etwa 25 % als unverändertes

TAA-^{35}S. Eine Speicherung von TAA oder einem Abbauprodukt wurde in keinem Organ beobachtet. MALOOF und SOODAK (28) fanden bei ihren Untersuchungen an Rattenschilddrüsen, daß TAA sehr schnell umgesetzt wird. Sie konnten papierchromatographisch TAA, proteingebundenen Schwefel, Sulfat, Thiosulfat und eine unbekannte Verbindung trennen. REES, ROWLAND und VARCOE (43) gingen 1966 einen anderen Weg. Sie markierten TAA mit Tritium an der Methylgruppe und untersuchten den Stoffwechsel dieser Substanz. Messungen der Acetat-Bildung aus TAA ergaben eine Rate von 95 %.
In vitro Inkubationen von Leber- und Nierenschnitten zeigten die Bildung des Metaboliten Acetamid, wobei Leberschnitte eine wesentlich höhere Umwandlungsgeschwindigkeit aufwiesen als Nierenschnitte. Sie folgerten daraus einen Abbauweg von Thioacetamid über Acetamid zu Acetat. Da Acetamid nur in sehr hohen Dosen toxische Schäden verursacht, diskutierten sie als eigentliche Noxe die Anwesenheit von geringen Mengen freien Schwefelwasserstoffes oder eines kurzlebigen Komplexes des TAA Moleküls mit seinem Angriffspunkt vor der Hydrolyse zu Acetamid. Damit läge die besondere Anfälligkeit der Leber an ihrer Fähigkeit, TAA am schnellsten zu metabolisieren.
1967 fanden AMMON, BERNINGER, HAAS und LANDSBERG (2) bei Untersuchungen an Kaninchen eine Substanz im Urin, die sie als Thioacetamidsulfoxid (TAA-SO) identifizieren konnten. Mit dieser Verbindung erzeugten sie bei ihren Versuchstieren Leberzellschädigungen, die denen nach Thioacetamid glichen.

Schon 1965 hatten BECKER und WALTER (7) über Versuche mit Thioacetamidsulfoxid berichtet und bei Rattenlebern Veränderungen beschrieben, die bei gleicher Dosierung über das Maß von TAA-Schäden hinausgingen. Die Stoffwechselzusammenhänge beider Substanzen waren noch nicht bekannt.
Über Untersuchungen in Hypothermie liegen Arbeiten von MOLNAR und VARGA (33) und SCHLICHT (48, 50) vor.
MOLNAR und VARGA, die in Normothermie 24 Stunden nach TAA-Applikation die schwersten Nekrosen gesehen hatten, versuchten diese durch sofort anschließende und 18 Stunden nach Applikation beginnende Unterkühlung zu beeinflussen.

Sie konnten damit nur die Nekrose und die Leberregeneration zeitlich hinausschieben, aber Schädigungen nicht vermeiden, obwohl die TAA- und TAA-SO-Konzentration 18 Stunden nach Applikation in der Leber nur noch 1/10 von der 2 Stunden nach Vergiftung betrug. SCHLICHT unterkühlte eine Stunde nach Applikation, sie konnte eine verminderte Umwandlung und Elimination beobachten, aber keine Lebernekrosen. Auch im Gefolge der Wiedererwärmung fand sie bei 2/3 der TAA-vergifteten Ratten keine toxische Schädigung.

II AUFGABEN DER VORLIEGENDEN ARBEIT

Thioacetamid ist zum Modellfall in der experimentellen Leberforschung geworden, da man dosisabhängig Fibrosen, Gallengangsadenome und -carcinome und Leberdystrophien erzeugen kann. Die beobachteten Nucleus- und Nucleolusveränderungen gaben Anlaß zu intensiven Untersuchungen des RNS-Stoffwechsels.
Um weiteren Einblick in die pathogenetischen Mechanismen zu bekommen, sollte der TAA-Stoffwechsel näher untersucht werden, und es stellten sich folgende Aufgaben:

1.) Pharmakokinetik bei akuter TAA-Vergiftung der Ratte mit quantitativen Aussagen über die Verteilung von Thioacetamid und seinen Metaboliten in den Organen und im Urin und ihre Beeinflussung durch Unterkühlung.

2.) Toxische Wirkung von TAA-SO in Normo- und Hypothermie.

3.) Beziehungen zwischen morphologischen Veränderungen in der Leber und Pharmakokinetik des TAA.

4.) Abbauweg des TAA und Diskussion über mögliche Wirkungsmechanismen.

III MATERIAL UND METHODEN

1.) Substanzen

Thioacetamid (TAA) wurde bezogen von der Firma E. Merck AG (Darmstadt, Bundesrepublik Deutschland) und Thioacetamid-^{35}S von Radiochemical Centre Amersham (England). Die spezifische Aktivität betrug 8,5 mCi/mMol. Die Applikationsdosis war 400 mg TAA-^{35}S/kg Tier mit einer spezifischen Aktivität von 500 µCi/kg Tiergewicht in 0,9% NaCl Lösung.
Thioacetamid-^{35}S-Sulfoxid (TAA-^{35}SO) wurde in unserem Institut aus TAA und TAA-^{35}S nach WALTER (70) synthetisiert.
Aus Methanol und Trockeneis wurde ein Kältegemisch von -30°C hergestellt, das den Reaktionskolben umgab. In einem Glaskolben wurden 3 ml 30 %iges Perhydrol (H_2O_2) mit 0,533 g $(NH_4)_2$ SO_4 gesättigt und langsam die Mischung von 0,02 g ^{35}S-TAA und 1,98 g TAA dazugegeben. Dabei war darauf zu achten, daß das Reaktionsgemisch sich nicht zu stark erwärmte. Die höchste, gemessene Temperatur betrug -8°C. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit 2 ml Aceton gewaschen, das entstandene TAA-^{35}SO in Methanol gelöst und mit Petroläther überschichtet. Bei -30°C in der Tiefkühltruhe fielen weiße Kristalle aus, die abfiltriert werden konnten. Die Ausbeute betrug 25 %.
Bei der Herstellung des inaktiven TAA-SO wurden 25 g TAA eingesetzt und 8 g TAA-SO gewonnen, bei entsprechenden Mischungsverhältnissen der übrigen Substanzen.
TAA-^{35}SO und TAA-SO wurde vor Applikation über Sephadex G 10 gereinigt. Es zeigten sich geringe Mengen SO_4 und TAA, die nach einmaliger Reinigung aber weniger als 2 ‰ ausmachten. Das eluierte, gereinigte TAA-^{35}SO und TAA-SO wurde mit Gefriertrocknung eingedampft und die entsprechende Applikationsdosis dann wieder in 0,9 %iger NaCl gelöst.
Sephadex G 10 wurde von Pharmacia G.m.b.H. Uppsala (Schweden) bezogen.

2.) Tiere

Versuchstiere waren weibliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 80-160 g. Für die Unterkühlungsversuche wurden auch männliche Ratten desselben Stammes verwendet. Sie bekamen Futter (Altromin) und Wasser ad libitum.

3.) Versuchsanordnung

Behandelt wurden mit:	TAA-^{35}S	17 Tiere
davon 5 in Unterkühlung;		
	TAA-^{35}SO	3 Tiere
	TAA-SO	6 Tiere

davon 3 in Unterkühlung.
Die inaktiven Versuche dienten histologischen Untersuchungen. Die Organe wurden in 10 %iger Formalinlösung gehärtet, in Paraffin eingebettet und ca. 5 µ dicke Schnitte mit HE gefärbt.

a) Normothermie

Einen Tag vor Versuchsbeginn wurden die Tiere in einen Stoffwechselkäfig gesetzt, der es gestattete, Urin und Kot getrennt zu sammeln. Am Versuchstag bekamen die Ratten die Testdosis mit einer Schlundsonde appliziert und wurden nach 100 Minuten, 4 Stunden oder 24 Stunden in Äthernarkose getötet. Blut wurde durch Abschneiden der Herzspitze gewonnen, die Organe entnommen, gewogen und bis zur Weiterverarbeitung in der Tiefkühltruhe aufbewahrt. Bei den 100-Minuten- und 4-Stunden-Versuchen wurde Sammelurin ausgewertet, bei den 24-Stunden-Tieren möglichst viele spontan gelassene Einzelportionen.

b) Hypothermie

Die Unterkühlungsversuche gingen über eine Zeit von 4 und 24 Stunden. Die Tiere bekamen Numal i.m., einen Ätherrausch und wurden mit Eis auf eine Rektaltemperatur von 25°C unterkühlt. Dann wurde die Testdosis TAA-^{35}S oder TAA-SO

appliziert. Die Rektalsonde war über einen transistorgesteuerten Temperaturregler mit einem Heizkäfig verbunden. Im Heizkäfig liegend kamen die Tiere während des Versuches in eine Tiefkühltruhe, die auf -10°C eingestellt war. Für Frischluft sorgte eine Wasserstrahlpumpe. Bei dieser Versuchsanordnung schwankte die Rektaltemperatur der Tiere um maximal ± 1°C.

4.) Aufarbeitung der Proben

Zur Trennung von TAA und seinen Metaboliten wurden Gewebe und Urin mit Aqua bidest. auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, mit einem Ultraturrax homogenisiert und ein Teil des Homogenats mit einem Überdruck-Filtrations-Gerät (Sartorius, SM 16206, Filter SM 11009) klarfiltriert. Das Gerät war dazu an eine Kohlensäureflasche angeschlossen. Der Arbeitsdruck lag bei 10 Athmosphären. 10 ml des Filtrates wurden auf eine Säule gegeben (Ø 1,6 cm, Füllhöhe ca. 50 cm Sephadex G 10). Die Elutionsgeschwindigkeit betrug 50 ml/Stunde. Elutionsmittel war Aqua bidest. Mit einem Serva Fraktionssammler 63 konnten Fraktionen mit 5 ml aufgefangen werden. Die aufgegebene Aktivität war stets in den ersten 40 Fraktionen enthalten. Testläufe mit $^{35}SO_4$ und TAA-^{35}S und einer Mischung beider Substanzen zeigten eine gute Trennung.

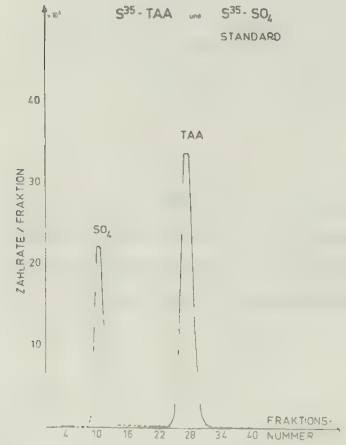


Abb. 1
(Säulenchromatographische Trennung von TAA-^{35}S und $^{35}SO_4$ mit Sephadex G 10).

5.) Messung der Radioaktivität

Die Aktivität wurde mit wasserlöslichem Szintillator (1 l Dioxan, 0,05 g POPOP, 4 g PPO, 120 g Naphthalin) in einem Tri-Carb (Packard: Modell 3003 Liquid Szintillation Spectrometer) gemessen.
(PPO=2,5-diphenyloxazole, POPOP=2-p-phenylene-bis-(5 phenyloxazole)).
Die Gesamtaktivität der einzelnen Organhomogenate wurde nach der Methode von DORSAY und LOFBERG (12) bestimmt: 0,2 ml Probe, 0,2 ml $HClO_4$ 60 %ig und 0,4 ml H_2O_2 30 %ig wurden eine Stunde bei 70-80°C in ein Wasserbad gestellt, nach Abkühlen mit 6 ml Äthylenglycolmonoäthyläther und 10 ml einer Mischung von 6 g PPO auf 1 l Toluol versetzt und im Tri-Carb gemessen. Diese Bestimmung diente gleichzeitig der Kontrolle der mit Filtration und Säulentrennung gewonnenen Werte. Es ergab sich jedoch keine Differenz der Ergebnisse beider Methoden.

IV ERGEBNISSE

Insgesamt wurden 95 säulenchromatographische Trennungen durchgeführt, von denen 8 als typische Beispiele in Abbildungen wiedergegeben sind, die restlichen sind in Tabellen oder Kurven zusammengefaßt. Die übrigen Werte stammen aus Bestimmungen der Gesamtdosis nach DORSAY und LOFBERG (12).
Die Ergebnisse sind nach Versuchsgruppen geordnet.

1.) TAA-^{35}S Applikation,
Versuchsdauer 100 Minuten

2.) TAA-^{35}S Applikation,
Versuchsdauer 4 Stunden

3.) TAA-^{35}S Applikation,
Versuchsdauer 24 Stunden

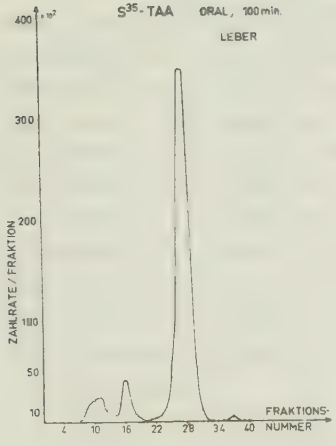
4.) TAA-^{35}S Applikation, Unterkühlung
Versuchsdauer 4 und 24 Stunden

5.) TAA-^{35}SO Applikation,
Versuchsdauer 100 Minuten
4 und 24 Stunden

6.) Histologische Untersuchungen
nach TAA-SO Applikation

1.) TAA-^{35}S Applikation
Versuchsdauer 100 Minuten

Es wurden 4 Tiere untersucht, bei der Bestimmung der Gesamtaktivität/g Gewebe ließ sich kein spezifisches Anreicherungsvermögen eines Organes erkennen. Ähnliche Ergebnisse hatten auch NYGAARD, ELDJARN und NAKKEN (36) und MALOOF und SOODAK (28). Nach autoradiographischen Untersuchungen von SCHLICHT (48) wurde TAA vermehrt in den zentralen Teilen des Leberläppchens, in der Magenschleimhaut und im Herzmuskel gefunden.
Mit Hilfe der Säulenchromatographie konnten schon nach dieser kurzen Versuchsdauer teilweise deutlich differierende Anteile der einzelnen Metaboliten ermittelt werden (Abb. 2 und 3).



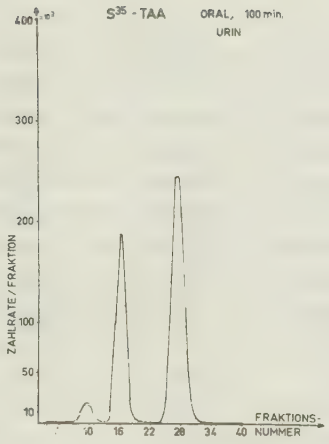


Abb. 2 und 3:
(Säulenchromatographische Auftrennung der Metaboliten in der Leber und im Urin. Die Aktivitätspeaks entsprechen den Anteilen von $^{35}SO_4$, TAA-^{35}SO und TAA-^{35}S).

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse eines Tieres, und zwar Gesamtaktivität/g Gewebe oder Flüssigkeit und die Anteile der gefundenen Metaboliten in Prozent davon.
Es fiel auf, daß in Lunge, Magen-Darm-Trakt und Urin bereits größere Mengen TAA-^{35}SO nachgewiesen werden konnten, in Leber und Blut aber der Hauptanteil der Aktivität noch in Form des TAA-^{35}S vorlag. Sulfat ließ sich in unterschiedlichem Maße in allen untersuchten Proben feststellen. AMMON, BERNINGER, HAAS und LANDSBERG (2) konnten bei ihren Versuchen an Kaninchen nach TAA-Applikation schon nach einer Stunde TAA-SO im Blut nachweisen.
Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der untersuchten Tiere.

Organ	%Dos./g	Anteile in % als $^{35}SO_4$	TAA-^{35}SO	TAA-^{35}S
Blut	0,44	7,8	2,1	90,1
Herz	0,10	4,3	5,3	90,4
Lunge	0,39	12,3	46,2	41,5
Leber	0,11	7,6	7,2	85,2
Nieren	0,55	12,6	6,4	81,0
Milz	-	-	-	-
Magen-Darm	0,61	13,1	34,4	52,5
	%Dos.			
Urin	3,44	4,5	35,6	59,9

Tab. 1

Gesamtaktivität/g Gewebe und Metabolitenverteilung 100 min nach TAA-^{35}S-Applikation.

Organ	%Dos./g Gewebe Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4
Blut	0,44	0,437	0,384	0,283
Herz	0,10	0,550	0,156	0,026
Lunge	0,39	0,495	0,409	0,313
Leber	0,11	0,498	0,357	0,286
Nieren	0,55	0,618	0,446	0,390
Milz	-	0,425	0,382	0,296
Magen-Darm	0,61	0,917	1,681	2,719
Blase	-	1,060	1,030	0,480
Urin %Dos.	3,44	4,86	0,84	1,94

Tab. 2

(Gesamtaktivität/g Gewebe 100 min nach TAA-^{35}S-Applikation der untersuchten Tiere).

2.) TAA-^{35}S-Applikation
Versuchsdauer 4 Stunden

Nach 4-stündiger Versuchsdauer zeigte sich je nach Resorptionsleistung des einzelnen Tieres eine Gesamtaktivitätsdosis/g Gewebe zwischen im Mittel 0,3 und 0,5 % in allen Organen. Die Säulenchromatographien ähnelten denen nach 100 Minuten, allgemein wurde der Anteil an TAA-^{35}SO und $^{35}SO_4$ größer, TAA-^{35}S stellte aber außer in Milz, Lunge und Urin noch in allen untersuchten Proben den größten Teil der gefundenen Aktivität dar. Der hohe peak von TAA-^{35}SO im Urin (Abb. 4) legte den Schluß nahe, daß TAA-^{35}SO durch die Nieren schneller aus dem Organismus eliminiert wurde als TAA-^{35}S.

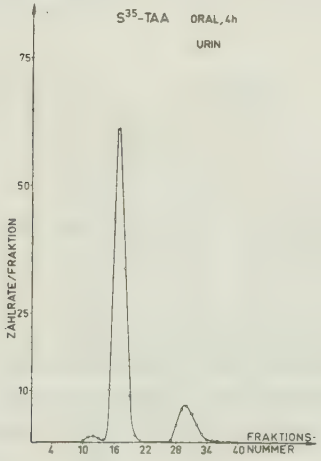
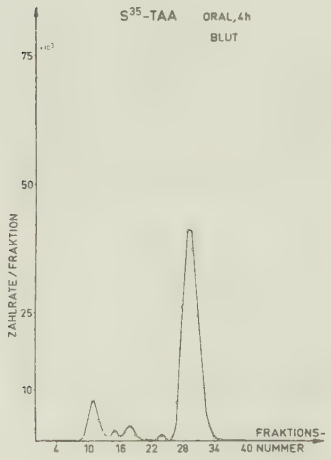


Abb. 4
(Säulenchromatographische Auftrennung der Metaboliten im Urin. $^{35}SO_4$ = 2,3 % TAA-^{35}SO = 82,8 %
TAA-^{35}S = 14,9 % der Gesamtaktivität).

Im Blut, Herz und Milz fanden sich neben $^{35}SO_4$, TAA-^{35}SO und TAA-^{35}S kleine Mengen unbekannter Verbindungen, die jeweils nicht mehr als 3 % der Gesamtaktivität ausmachten (Abb. 5 und 6).



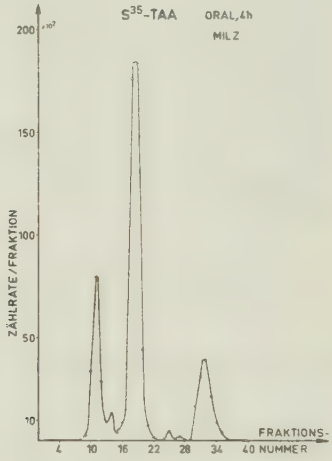


Abb. 5 und 6
(Säulenchromatographien von Blut und Milz 4 Stunden nach TAA-^{35}S-Applikation).

Die unterschiedliche Ausscheidung im Urin und die unterschiedliche Gesamtaktivität in der Leber hatten auf die Metabolitenverteilung bei allen Tieren nur wenig Einfluß. Tabelle 3 zeigt die in Urin und Leber gefundenen Werte.

	Anteile in % als				
	%Dos. im Urin	%Dos./g Leber	$^{35}SO_4$ in Leber	TAA-^{35}SO in Leber	TAA-^{35}S in Leber
Tier 1	0,47	0,40	9,5	9,4	81,1
Tier 2	13,02	0,35	16,1	9,2	74,7
Tier 3	8,83	0,29	15,6	8,7	75,7
Tier 4	10,45	0,22	25,1	15,3	59,6
Tier 5	11,10	0,34	12,6	6,3	81,1
$\bar{x}$	8,75	0,32	15,78	9,78	74,44
σ	±4,93	±0,07	± 5,84	±3,33	± 8,15

Tab. 3

(Im Urin ausgeschiedene Dosis nach 4 Stunden; Gesamtaktivität in der Leber pro g Gewebe und Anteile der einzelnen Metaboliten davon in Prozent).

	%Dos./g Gewebe				
	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5
Blut	0,32	0,364	0,297	0,233	0,362
Herz	0,36	0,454	0,362	0,320	0,354
Lunge	0,39	0,436	0,318	0,535	0,464
Leber	0,40	0,354	0,286	0,218	0,339
Nieren	0,50	0,470	0,370	0,372	0,404
Milz	0,39	0,507	0,301	0,295	0,555
Magen-Darm	2,01	2,850	2,560	2,464	2,560
Blase	0,75	0,940	0,545	0,448	0,881
Muskel	0,34	0,313	0,240	0,162	0,315
Kot	-	0,209	0,083	0,562	0,331
Urin %Dos.	0,47	13,018	8,825	10,453	11,101
Urin als $^{35}SO_4$ %Dos.	0,01				
Urin als TAA-^{35}S	0,07				
als % der eliminierten Aktivität ⌊ TAA-^{35}SO	0,39				
$^{35}SO_4$	2,3				
TAA-^{35}SO	82,8				
TAA-^{35}S	14,9				

Tab. 4

(Gesamtaktivität/g 4 Stunden nach TAA-^{35}S Applikation).

3.) TAA-^{35}S-Applikation
Versuchsdauer 24 Stunden

Untersucht wurden 3 Tiere, dabei die im Urin ausgeschiedene Gesamtaktivität in 9-11 spontan gelassenen Einzelportionen bestimmt und bei zwei Tieren sämtliche Urinproben über Sephadex G 10 aufgetrennt.
Alle zur Testreihe herangezogenen Organe zeigten nur noch geringe Aktivitätsmengen, Die Konzentration betrug zwischen 0,01 und 0,02 % Dosis/g. Eine Speicherung von TAA oder einem seiner Stoffwechselprodukte konnte nicht beobachtet werden. Die noch vorhandene Aktivität bestand zum ganz überwiegenden Teil aus Sulfat (Tab. 5).

		Anteile in % als		
Organ	% Dos./g	$^{35}SO_4$	TAA-^{35}SO	TAA-^{35}S
Blut	0,021	93,2	6,8	0
Herz	0,011	90,4	6,9	2,7
Lunge	0,021	88,8	7,0	4,2
Leber	0,012	96,5	3,5	0
Nieren	0,020	92,4	5,5	2,1
Milz	0,023	98,7	1,3	0
Magen-Darm	0,098	77,1	16,1	6,8
Muskel	0,008	87,5	10,3	2,2
	% Dos.			
Urin gesamt	69,03	17,9	48,54	2,59

Tab. 5
(Gesamtaktivität und Metabolitenverteilung nach 24 Stunden von einem mit TAA-^{35}S behandelten Tier).

Diese Befunde lassen sich mit denen von MOLNAR und VARGA (33) vergleichen, die 18 Stunden nach TAA-Applikation in der Leber nur noch 1/10 der Konzentration fanden, wie nach zweistündiger Versuchsdauer. Bei unseren Untersuchungen betrug die Dosis pro Gramm Lebergewebe nach 100 Minuten

0,313 ± 0,162 % und nach 24 Stunden 0,014 ± 0,006 %, wobei kein TAA mehr nachzuweisen war. Die an einem Tag mit dem Urin ausgeschiedene Aktivitätsmenge lag zwischen 66 % und 75 % der applizierten Dosis, NYGAARD, ELDJARN. und NAKKEN (36) fanden 80 %, SCHLICHT (48, 49) konnte im Mittel 77 % nachweisen.

Thioacetamid-^{35}S wurde nur zu 2,3 % bzw. 2,6 % der applizierten Dosis unverändert im 24-Stunden-Urin gefunden, als ^{35}S-Sulfat wurden 16,5 % bzw. 17,9 % und als TAA-^{35}SO 47,9 % bzw. 48,6 % ausgeschieden. REES, ROWLAND und VARCOE (43) gaben 150 g schweren Ratten 4 Tage lang je 5 mg Tritium-markiertes TAA, und im Sammelurin erschien etwas mehr als 0,5 % der insgesamt verabreichten Dosis unverändert.

Aus Abbildung 7 läßt sich ersehen, daß TAA zu Anfang, d.h. nur dann unverändert ausgeschieden wurde, wenn der Blutspiegel hoch war. Nach 12 Stunden wurden nur noch minimale Mengen nicht metabolisiert. Die $^{35}SO_4$-Ausscheidung nahm besonders in der letzten Phase des Versuches zu, während 72,9 % des gesamten TAA-SO in den ersten 12 Stunden eliminiert wurde.

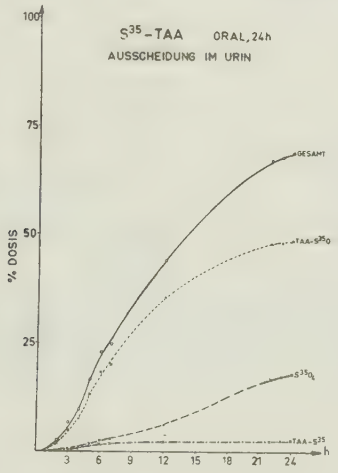


Abb. 7
(Gesamtaktivität und Metabolitenverteilung im Urin nach Sephadex G 10 Auftrennung einzelner, spontaner Urinportionen).

Noch anschaulicher sind die Metabolitenverteilungen der Einzelproben. Abb. 8-10 zeigen die Verteilung beim ersten Urin (1. und 2. Versuchsstunde), beim 7. (8.-12. Stunde) und beim 10. Urin (24. Stunde) eines Tieres.

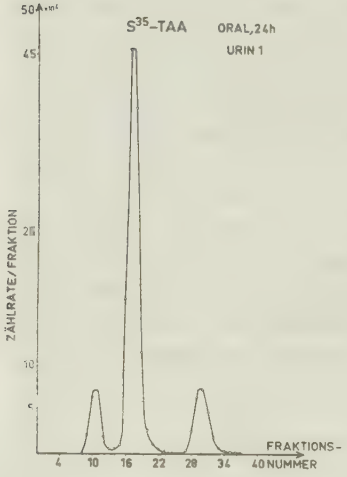


Abb. 8

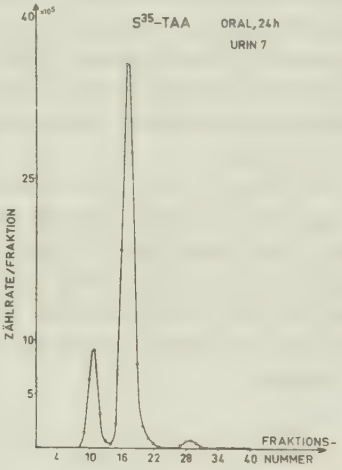


Abb. 9

Urin 1:

$^{35}SO_4$ = 11,25 %

TAA-^{35}SO = 73,88 %

TAA-^{35}S = 14,87 %

Urin 7:

$^{35}SO_4$ = 17,76 %

TAA-^{35}SO = 80,18 %

TAA-^{35}S = 2,06 %

Abb. 8-10
(Säulenchromatographische Auftrennung der Metaboliten verschiedener Urinportionen eines Tieres).

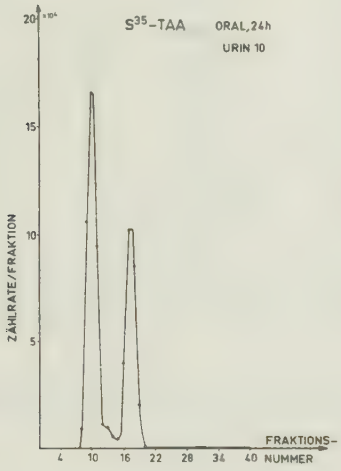


Abb. 10

Urin 10:

$^{35}SO_4$ = 61,14 %

TAA-^{35}SO = 38,66 %

TAA-^{35}S = 0,20 %

Die prozentualen Anteile von TAA und seinen Metaboliten aller Urinportionen sind in Tabelle 6 zusammengefaßt.

Urinportionen	Zeit in h nach Versuchsbeginn	%Dos.	Anteile in % als $^{35}SO_4$	TAA-^{35}SO	TAA-^{35}S
1	2	2,674	11,25	73,88	14,87
2	3	4,082	13,18	78,82	8,00
3	4	2,970	13,18	77,78	9,04
4	5	6,950	11,00	82,34	6,66
5	6	6,272	11,65	83,33	5,02
6	7	1,828	15,80	79,42	4,78
7	12	19,304	17,76	80,18	2,06
8	22	23,155	44,79	53,80	1,41
9	23	0,657	60,01	38,94	1,05
10	24	1,142	61,14	38,66	0,20
Summe:		66,677	16,55	47,86	2,26

Tab. 6
(In 24 Stunden ausgeschiedene Aktivität und prozentuale Anteile von TAA-^{35}S, TAA-^{35}SO und $^{35}SO_4$).

Tabelle 7 und 8 zeigen die zusammengefaßten Ergebnisse der untersuchten Tiere.

Organ	% Dos./g Gewebe		
	Tier 1	Tier 2	Tier 3
Blut		0,021	0,010
Herz		0,011	0,007
Lunge		0,021	0,009
Leber	0,021	0,012	0,010
Nieren	0,059	0,020	0,018
Milz		0,023	0,016
Magen-Darm		0,098	0,063
Blase			0,053
Muskel		0,008	0,003
Kot		0,736	1,309
Urin % Dos.	66,70	69,03	75,71

Tab. 7
(Gesamtaktivität/g 24 Stunden nach TAA-^{35}S Applikation).

	% Dos. der Einzelportionen					
Zeit in Stunden nach Versuchsbeginn	Tier 1		Tier 2		Tier 3	
Urin 1	2	3,016	2	2,674	2	1,110
2	4	4,855	3	4,082	4	9,800
3	5	6.518	4	2,970	6	11,240
4	6	7,863	5	6,950	10	32,320
5	8	8,262	6	6,272	12	15,900
6	21	33,059	7	1,828	20	4,640
7	22	1,536	12	19,304	22	0,300
8	23	0,931	22	23,155	24	0,400
9	24	0,637	23	0,657		
10			24	1,142		

Tab. 8
(Gesamtaktivität der einzelnen Urinportionen innerhalb 24 Stunden nach TAA-^{35}S Applikation).

4.) TAA-^{35}S-Applikation; Unterkühlung
Versuchsdauer 4 und 24 Stunden

Basierend auf den Untersuchungen von SCHLICHT (48, 50) und MOLNAR und VARGA (33), bei denen in Unterkühlung keine Lebernekrosen auftraten, beziehungsweise nur vermindert und verzögert zu sehen waren, schien es interessant zu testen, inwieweit die Metabolisierung von TAA durch Hypothermie beeinflusst wird. Abweichend von der Methode der oben genannten Autoren wurden unsere Versuchstiere zuerst unterkühlt und erhielten die Testdosis nach Erreichen der gewünschten Rektaltemperatur von 25°C. Im Urin und den untersuchten Organen konnten die gleichen Stoffwechselprodukte nachgewiesen werden, die auch in Normothermie auftreten. Die Schutzwirkung der Unterkühlung konnte demnach nicht darauf beruhen, daß keine oder nur minimale Mengen an TAA-SO entstanden, das, wie BECKER und WALTER (7) zeigten, ähnliche Schäden wie TAA erzeugt. In Tabelle 9 wurden die Anteile der im Urin gefundenen Metaboliten von unterkühlten und nicht unterkühlten Tieren zum Vergleich zusammengestellt. Es ließ sich kein sicherer Unterschied erkennen.

Zeit	Rektal-temperatur °C	$^{35}SO_4$	TAA-^{35}SO	TAA-^{35}S
4 h	38	9,3	82,8	14,9
4 h	25	10,7 15,75	70,9 68,7	18,4 15,55
24 h	38	24,82 25,93	71,79 70,32	3,39 3,75
24 h	25	30,76 17,00 20,97	63,41 75,12 74,31	5,83 7,88 4,72

Tab. 9
(Anteile der im Urin gefundenen Metaboliten in Normothermie und Hypothermie).

Die in 24 Stunden mit dem Urin ausgeschiedene Gesamtaktivität lag mit 14,3 %, 45 % und 21,6 % der drei unterkühlten Tiere aber deutlich unter der in Normothermie, bei der im

Mittel 69 % eliminiert wurden. Abbildung 11 zeigt die Ausscheidungskurven der untersuchten Tiere.

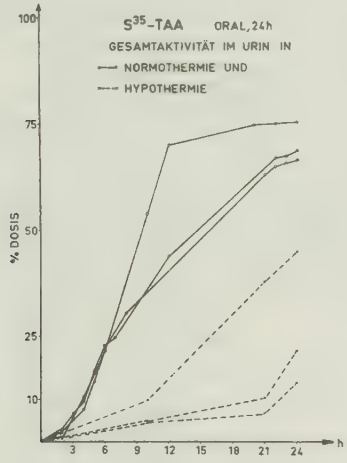


Abb. 11

(Gesamtaktivität in % der applizierten Dosis im Urin in 24 Stunden bei jeweils drei Tieren in Normothermie (——) und Hypothermie (-----).

Die nach 24-stündiger Hypothermie in der Leber und den anderen Organen gemessene Aktivität lag mehr mals eine Zehnerpotenz höher als ohne Unterkühlung.

Zeit	Rektaltemperatur in °C	% Dosis/g Leber		
		Tier 1	Tier 2	Tier 3
24 h	38	0,021	0,012	0,010
24 h	25	0,488	0,245	0,236

Tab. 10

(Gesamtaktivität der Leber in Prozent der applizierten Dosis pro Gramm Gewebe nach 24 Stunden in Normothermie und Hypothermie bei jeweils drei Tieren).

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten, daß in Hypothermie Thioacetamid wahrscheinlich langsamer aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert wurde, die Umwandlungsgeschwindigkeit nur unwesentlich beeinflußt wurde und die Schutzwirkung der Unterkühlung einen vom Metabolismus unabhängigen Effekt darstellen muß. Auch nach 24-stündiger Unterkühlung sind noch lebertoxische Gewebsspiegel vorhanden, ohne daß im histologischen Bild Nekrosen zu sehen sind.
Tabelle 11 zeigt die Gesamtaktivität/g und die Ausscheidung im Urin in % der applizierten Dosis der unterkühlten Tiere.

	4 Stunden		24 Stunden		
Organ	Tier 1	Tier 2	Tier 1	Tier 2	Tier 3
Blut			0,419	0,262	0,261
Herz			0,408	0,224	0,227
Lunge			0,556	0,252	0,250
Leber	0,25	0,44	0,488	0,245	0,236
Nieren			0,839	0,289	0,293
Milz			0,425	0,235	0,233
Magen-Darm			1,781	0,889	2,139
Blase			1,223	1,336	1,243
Muskel			0,390	0,223	0,224
Urin %Dos.	3,4	2,88	14,113	45,031	21,590

Tab. 11
(Gesamtaktivität/g und ausgeschiedene Aktivität in % Dos. im Urin in 25°C Unterkühlung 4 und 24 Stunden nach TAA-^{35}S Applikation).

5.) TAA-^{35}SO-Applikation
Versuchsdauer 100 Minuten, 4 und 24 Stunden

TAA-^{35}SO wurde aus einer Mischung von TAA-^{35}S und inaktivem Thioacetamid nach WALTER (70) synthetisiert und um auszuschließen, daß noch kleinere Mengen TAA bei der Applikation vorhanden sind, reinigten wir die gewonnene Substanz über Sephadex G 10. Die ganz überwiegende Aktivität war in den Fraktionen 14–20 enthalten, es zeigten sich aber Beimischungen von SO_4 und TAA. Außerdem waren wir jetzt auch sicher, daß die bei TAA-^{35}S-Applikation der früheren Versuche und Sephadex G 10-Auftrennung in den Fraktionen 14–20 aufgetretene Substanz TAA-^{35}SO entsprach, und daß wir bei den jetzigen Tieren außer TAA-^{35}SO keinerlei Verunreinigung applizieren würden. Jedes Tier erhielt 20 mg TAA-^{35}SO. AMMON, BERNINGER, HAAS und LANDSBERG (2), die als erste die Stoffwechselzusammenhänge von TAA und TAA-SO beschrieben, fanden ein Gleichgewicht zwischen beiden Substanzen im Kaninchenversuch, und sie konnten eine Stunde nach TAA-SO-Injektion TAA papierchromatographisch im Plasma nachweisen. Bei unserem 100-Minuten-Versuch zeigte sich in unterschiedlichem Maße TAA, der prozentuale Anteil an der Gesamtaktivität war mit 33 % im Blut am höchsten, im Magen-Darm-Trakt fanden sich 24 % und in der Leber knapp 20 %. In Milz, Nieren, Lunge und Urin waren nur weniger als 5 % nachweisbar. Tabelle 12 zeigt die ermittelten Werte.

Das zweite Tier, das nach 4 Stunden getötet wurde, hatte bereits 36,7 % der applizierten Dosis mit dem Urin ausgeschieden, wobei 0,5 % der eliminierten Aktivität TAA entsprach. Der Anteil dieser Substanz im Blut betrug nach Versuchsende noch 24,3 %, in der Leber 8,1 %. In der Milz ließ sich kein TAA nachweisen (Tabelle 13).

Bei einem Tier wurde die in 24 Stunden im Urin ausgeschiedene Aktivität bestimmt und die einzelnen Urinportionen über Sephadex G 10 aufgetrennt. 68,09 % der applizierten Dosis wurden eliminiert, davon 0,2 % als TAA. Abbildung 12 zeigt die Gesamtaktivität und die Anteile von $^{35}SO_4$, TAA-^{35}SO und TAA-^{35}S im Urin.

Organ	%Dos./g	Anteile in % als $^{35}SO_4$	TAA-^{35}SO	TAA-^{35}S
Blut	0,072	36,57	30,05	33,38
Lunge	0,123	53,85	43,59	2,56
Leber	0,163	57,58	22,66	19,76
Nieren	0,079	61,40	33,45	5,15
Magen-Darm	0,574	24,78	50,42	24,80
	%Dos.			
Urin	7,10	15,77	83,96	0,26
Kot	0,030	48,55	47,83	3,62

Tab. 12
(TAA-^{35}SO-Applikation von 20 mg; Gesamtaktivität und Metabolitenverteilung nach 100 Minuten).

Organ	%Dos./g	Anteile in % als $^{35}SO_4$	TAA-^{35}SO	TAA-^{35}S
Blut	0,049	61,8	13,9	24,3
Leber	0,061	85,3	6,6	8,1
Milz	0,059	65,7	34,3	0
	%Dos.			
Urin	36,73	34,3	65,2	0,5

Tab. 13
(Gesamtaktivität und Metabolitenverteilung nach Applikation von 20 mg TAA-^{35}SO; Versuchsdauer 4 Stunden).

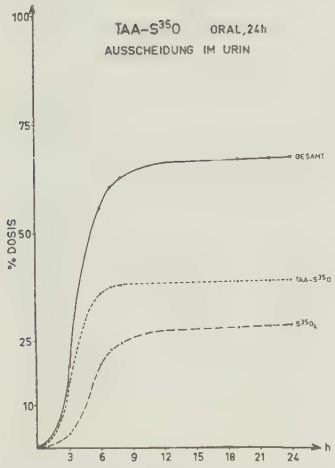


Abb. 12
(Gesamtaktivität nach TAA-^{35}SO-Applikation und Metabolitenverteilung im Urin über 24 Stunden).

Innerhalb der ersten 8 Stunden fanden sich bereits 92,84 % der insgesamt ausgeschiedenen Aktivität im Urin, ermittelt man für den gleichen Zeitraum den prozentualen Anteil der Einzelsubstanzen, so ergibt sich für $^{35}SO_4$ 86,48 %, für TAA-^{35}SO 97,45 % und für TAA-^{35}S 94,5 %.

Tabelle 14 zeigt die Gesamtaktivität der innerhalb 24 Stunden nach TAA-^{35}SO-Applikation ausgeschiedenen Dosis und die Metabolitenverteilung der Einzelportionen.

	Zeit in h nach Versuchsbeginn		Anteile in % als			
			%Dos.	$^{35}SO_4$	TAA-^{35}SO	TAA-^{35}S
Urin gesamt			68,093	28,647	39,246	0,200
Urin	1	3	19,464	3,685	15,715	0,064
	2	6	36,645	16,032	20,496	0,117
	3	7	5,006	3,495	1,506	0,005
	4	8	2,096	1,563	0,530	0,003
	5	19	4,209	3,508	0,750	0,011
	6	22	0,148	0,126	0,022	0
	7	24	0,465	0,238	0,227	0

Tab. 14

(Gesamtaktivität und Metabolitenverteilung im Urin innerhalb 24 Stunden nach TAA-^{35}SO-Applikation).

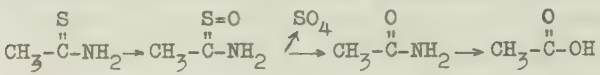
6.) Histologische Untersuchungen
TAA-SO-Applikation; Versuchsdauer 24 Stunden in Normothermie und Hypothermie

Bei jeweils drei Ratten wurden nach 40 mg TAA-SO die Organe histologisch untersucht. Bei den nicht unterkühlten Tieren sahen wir toxische Schäden an Leber und Nieren.
Die Leber zeigte ausgedehnte Nekrosen um die Zentralvene. Zur Peripherie hin sahen wir eine gürtelförmige Zone mit Kernen im Stadium der Karyolyse, gut angefärbten Nucleoli, hydropisch degenerierten Leberepithelien und teilweiser Zelldissoziation. In den äußeren Anteilen des Leberläppchens war das Lebergewebe normal. Das histologische Bild unterschied sich kaum von dem nach akuter TAA-Vergiftung beschrieben (17, 26, 48, 50), es erschien aber das Ausmaß der Nekrosen bei gleicher Dosierung nach TAA-SO größer. Die von BECKER und WALTER (7) geschilderten und als typisch für

TAA-SO angesehenen Veränderungen der Leberzelle bezogen sich besonders auf ihre "längerdauernden Versuche", bei der akuten Vergiftung wiesen sie aber auch auf ausgedehntere Nekrosen und auf das "Nucleolusphänomen" hin.
Die Nieren zeigten Veränderungen im Bereiche der proximalen Tubuli, dort boten die Zellen das Bild einer hydropischen Degeneration, und im Bereiche der Markzone, wo eine verstärkte Blutfülle ohne erkennbare Schädigung der umgebenden Zellen zu beobachten war.
Bei den unterkühlten Tieren konnten wir an den untersuchten Organen lichtmikroskopisch keine Abweichung vom Normalbefund feststellen.

V DISKUSSION

Die verwendete Dosis von 400 mg/kg Tier erzeugte in Normothermie ausgedehnte, zentrale Lebernekrosen. Die Umwandlung von TAA-^{35}S ging rasch vor sich, an schwefelmarkierten Metaboliten fanden sich TAA-^{35}SO und $^{35}SO_4$.
Nach der Arbeit von REES, ROWLAND und VARCOE (43) wird Acetamid weiter zu Acetat abgebaut. Man kann danach vereinfacht folgenden Abbauweg annehmen:



Je nach Versuchsdauer änderte sich der Anteil der gefundenen Metaboliten. Die höchsten Blutaktivitätsspiegel konnten bei den 100-Minuten-Versuchen festgestellt werden. TAA-^{35}SO und $^{35}SO_4$ waren auch zu diesem Zeitpunkt schon in allen Organen nachweisbar. Im Urin machte TAA-^{35}SO nach 4 Stunden mit 82,8 % den Hauptanteil der gefundenen Aktivität aus, während zur gleichen Zeit im Blut TAA-^{35}S mit 81,5 % die weitaus überwiegende Substanz darstellte. Dieses Ergebnis legte den Schluß nahe, daß TAA-^{35}SO besser nierengängig war als TAA-^{35}S und schnell vom Organismus eliminiert werden konnte. Bei den 24-Stunden-Versuchen zeigte sich gegen Ende der Zeit eine Zunahme des $^{35}SO_4$-Anteils, der in der letzten Urinportion mit 61 % den zahlenmäßig höchsten Wert erreichte. Insgesamt wurden in 24 Stunden zwischen 66 % und 76 % der applizierten Aktivität mit dem Urin ausgeschieden, wobei unverändertes TAA-^{35}S etwas mehr als 2 % ausmachte. REES, ROWLAND und VARCOE (43) fanden 0,53 % unverändertes ^{3}H-TAA nach 4-tägiger Gabe von jeweils 5 mg ^{3}H-TAA im Urin. Diese Ergebnisse zeigen, daß TAA nur bei hohen Blutspiegeln im Urin erscheint.
Bei unseren Versuchen waren in den ersten 12 Stunden bereits mehr als 75 % der gesamten TAA-^{35}S-Ausscheidung erfolgt (Abb. 7). Nach ASHWORTH, WERNER und WRIGHTMAN (3) treten schon nach 25 mg/kg TAA nach 6-8 Stunden Leberschäden im Sinne einer trüben Schwellung ein. Da bei unseren Versuchen etwa die 20-fache Dosis verwendet wurde und nach 24 Stunden der Blutaktivitätsspiegel auf 1/20 im Vergleich zu den 100-Minuten-Versuchen abgefallen war, dürfte ein

lebertoxischer TAA-Spiegel bis zum Ende der Versuchszeit bestanden haben.
Ein sichtbarer Effekt setzt eine toxische Einwirkung voraus. Je größer die Umsatzgeschwindigkeit eines betroffenen Enzymsystems ist, desto schneller wird die Schädigung in Erscheinung treten (35). Änderungen enzymatischer Reaktionen wurden vielfach beschrieben (6, 9-11, 16, 19, 29, 37, 39-42, 46, 51-54, 62, 64-69), jedoch überwiegend zu einer Zeit, da auch mikroskopisch oder elektronenmikroskopisch bereits sichtbare Veränderungen bestanden. Es läßt sich daher nicht sagen, ob TAA, TAA-SO oder beide primär für die Veränderungen verantwortlich sind, oder ob sie als Folgeerscheinung der eigentlichen Schädigung aufgetreten sind. Zur Klärung dieser Fragen werden Versuche notwendig sein, die sich mit dem Zeitraum der ersten 6 Stunden nach der Vergiftung befassen. Da TAA schnell metabolisiert wird und schon nach 100 Minuten TAA-SO und SO_4 nachzuweisen sind, erhebt sich die Frage nach der eigentlich toxischen Substanz. REES, ROWLAND und VARCOE (43) konnten bei ihren Versuchen mit Acetamid nur in sehr hohen Dosen Schäden erzielen, es bleiben zur Diskussion TAA und sein Sulfoxid. Die nach alleiniger Gabe von TAA-SO von BECKER und WALTER (7) beschriebenen und auch bei unseren Versuchen aufgetretenen Nekrosen, lassen aber noch keinen Rückschluß zu. Wie AMMON, BERNINGER, HAAS und LANDSBERG (2) beschrieben und wie auch aus Tabelle 7 hervorgeht, kann TAA-SO im Organismus wieder in TAA übergehen. Aus den Unterkühlungsversuchen von SCHLICHT (48, 50) ging ein absoluter, aus denen von MOLNAR und VARGA (33) zumindest ein teilweiser Schutz vor der TAA-Vergiftung hervor.
In unseren Versuchen war in Hypothermie der Metabolismus von TAA nicht wesentlich beeinflußt und wie auch nach Gabe von TAA-SO traten keine Lebernekrosen auf. Die von GALLAGHER, GUPTA, JUDAH und REES (16), REES, SINHA und SPECTOR (40)und HRUBAN, GRADMAN, SLESERS und LUBRAN (20) beschriebenen Schutzwirkungen von Phenergan (Promethazin) und die von CLIFFORD und REES (11) beschriebene Hemmung des Chlorpromazinabbaues lassen einen Zusammenhang mit dem TAA-Metabolismus vermuten. Nach REMMER (44), BECKETT und HEWICK (8) wird Chlorpromazin zumindest teilweise sulfoxy-

diert, und es könnte eine Substratkonkurrenz am abbauenden Enzym eintreten. Dies würde auch erklären, daß MOLNAR und VARGA (33) bei ihren Hypothermieversuchen noch Lebernekrosen beobachten konnten. Sie benutzten zur Narkose den Cocktail lytique (Chlorpromazin, Promethazin, Pethidin) und, wenn durch diese Substanzen die TAA-SO-Bildung verzögert würde, dann könnte nach Wiedererwärmung und mit Abklingen der Narkose der Metabolismus von TAA wieder in Gang gekommen sein und die Schädigung hervorgerufen haben. REMMER (44) beschreibt ausführlich als Charakteristikum der arzneimittelabbauenden Enzyme des endoplasmatischen Reticulums der Leberzelle ihre Unspezifität, die eine Substratkonkurrenz von TAA und den angeführten Phenothiazinderivaten noch wahrscheinlicher machen lassen. Aus dieser Sicht wäre TAA-SO die eigentliche toxische Substanz.

Wenden wir uns nun den Veränderungen von Leberzellkern und Nucleolus nach TAA-Vergiftung zu und den Möglichkeiten, diese zu beeinflussen.

VORBRODT A., VORBRODT K., KRZYZOWSKA-GRUCA, STEPLEWSKI und CHORAZY (68) sahen nach TAA-Gabe Nucleolusvergrößerungen, die verschwanden, wenn sie gleichzeitig Actinomycin D injizierten. NEUBERT (35) faßte die gesicherten Ergebnisse über die Wirkung und den Ansatzpunkt von Actinomycin D zusammen. Danach wird die Aminogruppe und der Sauerstoff des Actinomycin D an einen Guanosinrest eines Basenpaares in der DNS-Doppelspirale gebunden (Abbildung 13).

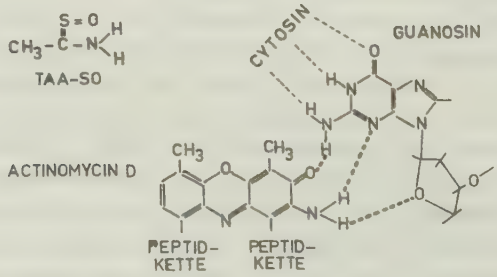
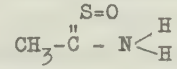


Abb. 13 (Wasserstoffbrücken-Bindung des Actinomycins an den Guanosin-Rest eines Basenpaares in der DNS-Doppelspirale).

Vergleicht man bei dieser Bindung die aktive Gruppe des Actinomycin D mit der Formel von TAA-SO,



so zeigt sich eine ähnliche Gruppierung. STEELE und BUSCH (55) fanden bei ihren Untersuchungen eine an Guanosin-Cytosin reiche RNS nach TAA-Applikation. VILLALOBOS, STEELE und BUSCH (63) hatten bei ihren in vitro-Versuchen mit Kernkörperchen die geringste Einbaurate in RNS, wenn GTP und/oder CTP in dem Reaktionsgemisch fehlten. Dagegen stieg die Überlebensrate von vergifteten Ratten, wenn sie eine an Guanosin reiche Nahrung bekamen, wie HRUBAN, GRADMAN, SLESERS und LUBRAN (20) bei ihren Untersuchungen zur Toxizität von TAA feststellten.
Auch die von KUME und CHIGA (27) beschriebene Hemmung der Actinomycin D-Wirkung auf Nucleoli von Mäuseleberzellen durch TAA läßt einen Zusammenhang der Wirkgruppe von TAA-SO und Actinomycin D wahrscheinlich erscheinen. Die Hemmung war am ausgeprägtesten in der Zeit von 2-4 Stunden nach TAA-Injektion, d.h. wenn TAA-SO vorhanden ist.
Die schnelle Ausscheidung läßt dann diesen Effekt wieder verschwinden. Zwar konnten KUME und CHIGA (27) diese Hemmung der Actinomycin D-Wirkung an Rattenleberzellen nicht sehen, die Untersuchungen von VORBRODT A., VORBRODT K., KRZYZOWSKA-GRUCA, STEPLEWSKI und CHORAZY (68) weisen aber auf das Bestehen ähnlicher Verhältnisse hin. Da aber nach TAA-Gabe eine vermehrte Produktion von RNS im Kern und Nucleolus auftritt, muß eine von Actinomyzin D abweichende Wirkung vorliegen. Diese könnte man nur erklären, wenn nach der Bindung von TAA-SO an die DNS die Doppelhelix sich stellenweise öffnet und nach Elimination von TAA-SO eine Nucleinsäuresynthese in Gang kommt. Nimmt man weiter an, daß je nach Häufigkeit der Basenpaarung G-C in der DNS unterschiedlich lange m-RNS ähnliche Strukturen aufgebaut werden, die aber keiner spezifischen m-RNS entsprechen, so kann man die von VILLALOBOS, STEELE und BUSCH (64) festgestellte erhöhte Ribonucleaseaktivität erklären.

Wird keine regelrechte m-RNS mehr gebildet und ins Cytoplasma abgegeben, kommt die Proteinsynthese zum Erliegen. Bei TAA-vergifteten Tieren zeigt sich das an der Abnahme der cytoplasmatischen Basophilie und am Verlust des rauhen Endoplasmatischen Reticulums.
Die Klärung der pharmakologischen Reaktionsweise von TAA und TAA-SO im molekularen Bereiche bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Die hier angeführten Untersuchungsergebnisse der verschiedensten Forschergruppen und die aufgestellten Thesen können nur das Bemühen widerspiegeln, das dem Stoffwechsel von Thioacetamid entgegengebracht wird. Mit der Methode der vorliegenden Arbeit gelang es, quantitative Ergebnisse von TAA und seinen Metaboliten während der akuten Vergiftung der Ratte in Normo- und Hypothermie zu bekommen.

VI RECHENBEISPIEL

Appliziert werden sollten: 40 mg TAA bei 50 µCi TAA-^{35}S pro 100 g Tiergewicht. Die spezifische Aktivität beträgt am Tage der Applikation 75,6 µCi/mg TAA-^{35}S.
Es sollen 10 ml Applikationslösung hergestellt werden für mehrere Tiere.

4,82 mg TAA-^{35}S = 364 µCi; das sind
36,4 µCi in 1 ml Lösung oder
50 µCi in 1,38 ml Lösung

Damit in 1,38 ml Applikationslösung 40 mg TAA enthalten sind, müssen in 1 ml 29 mg TAA enthalten sein und in 10 ml 290 mg TAA.
Bei der tatsächlichen Einwaage werden 4,82 x 10^{-3}g TAA-^{35}S und 0,28765 g TAA in 9,98845 g H_2O gelöst.

An wirksamer Substanz sind also in 9,98845 g H_2O 292,47 mg enthalten.

Das entspricht der Forderung 40 mg TAA/100 g Tier, wenn 1,38 ml/100 g appliziert werden.

4,82 x 10^{-3}g TAA-^{35}S waren 364 µCi

4,82 x 10^{-3}g in 9,98845 g H_2O sind
0,48255 x 10^{-3} g TAA-^{35}S in 1 g H_2O

Das entspricht der Forderung 50 µCi TAA-^{35}S pro 100 g Tier, wenn 1,38 ml/100 g appliziert werden.

Zur Berechnung der applizierten Impulse werden 2 verschiedene Standardlösungen angesetzt

Standard 1

0,19148 g Applikationslösung	=	0,0924 x 10^{-3}g TAA-^{35}S
	=	92,4 x 10^{-6}g TAA-^{35}S
aufgefüllt auf 50,18755 g H_2O		
ergibt in 50,18755 g H_2O	=	92,4 x 10^{-6}g TAA-^{35}S
in 1 ml Standardlösung	=	1,814 x 10^{-6}g TAA-^{35}S

Standard 2

in 1,00140 ml Standard 1 = $1{,}816 \times 10^{-6}$ g TAA-^{35}S

aufgefüllt auf 99,6642 g Standard 2 Lösung ergibt sich

in 99,6642 g = $1{,}816 \times 10^{-6}$ g TAA-^{35}S

in 1 g Standard 2 = $0{,}01822 \times 10^{-6}$ g

in 1 ml Standard 2 Lösung = $18{,}22 \times 10^{-9}$ g TAA-^{35}S

Messung

1 ml Standard 1 = 199060 Ipm

199060 Ipm = $1{,}814 \times 10^{-6}$ g TAA-^{35}S

1 Ipm = $9{,}1128 \times 10^{-12}$ g TAA-^{35}S

1 ml Standard 2 = 1974 Ipm

1974 Ipm = $18{,}22 \times 10^{-9}$ g TAA-^{35}S

1 Ipm = $9{,}23 \times 10^{-12}$ g TAA-^{35}S

Daraus durchschnittlich:

1 Ipm = $9{,}17 \times 10^{-12}$ g TAA-^{35}S

Bei einem Tiergewicht von 132 g mußten

66 µCi = 1,82 ml Applikationslösung

gegeben werden.

In 1 ml sind $0{,}48255 \times 10^{-3}$ g TAA-^{35}S

In 1,82 ml sind $0{,}87824 \times 10^{-3}$ g TAA-^{35}S

1 Ipm = $9{,}17 \times 10^{-12}$ g TAA-^{35}S

X Ipm = $0{,}87824 \times 10^{-3}$ g TAA-^{35}S

$1 : 9{,}17 \times 10^{-12} = X : 0{,}87824 \times 10^{-3}$

$X = 9{,}577317 \times 10^{7}$

Appliziert wurden bei diesem Tier

95,773 Millionen Impulse

Auswertung eines Organes z. B. Leber

Gewicht 5,82 g, aufgefüllt auf 5o ml, homogenisiert, filtriert und 0,5 ml des Filtrates gemessen.

0,5 ml	= 20047 Ipm
Gesamthomogenat	= 2004700 Ipm

durch Quenchkorrektur mit internem Standard ergibt sich für das Gesamthomogenat 2784305 Ipm.

2784305 von 95773000 sind 2,9 %

In der Leber sind also 2,9 % der applizierten Dosis TAA-^{35}S.

Lebergewicht 5,82 g ergibt

0,498 % Dos./g Leber.

VII ZUSAMMENFASSUNG

Seit 1948 ist Thioacetamid (TAA) als lebertoxische Substanz bekannt und zum Modellfall in der experimentellen Hepatologie geworden, da man dosisabhängig Leberdystrophien verschiedensten Ausmaßes erzeugen kann. Mit dem Stoffwechsel von TAA haben sich nur wenige Arbeitsgruppen beschäftigt, bekannt sind die Metaboliten TAA-SO, SO_4 und Acetamid. Außerdem wurden auch proteingebundener Schwefel und Thiosulfat gefunden. Unsere Untersuchungen während der akuten Vergiftung der Ratte mit 400 mg/kg ^{35}S-TAA ermöglichten es, quantitative Aussagen über die Verteilung von ^{35}S-TAA, TAA-^{35}SO und $^{35}SO_4$ zu machen.

100 Minuten, 4 Stunden und 24 Stunden nach ^{35}S-TAA Gabe wurden in Normo- und Hypothermie in Organen, Blut und Urin ^{35}S-TAA und seine schwefelmarkierten Metaboliten mit Hilfe der Säulenchromatographie bestimmt. Schon bei den 100-Minuten-Versuchen zeigte sich im Urin ein wesentlich höherer Anteil an TAA-^{35}SO als nach den Ergebnissen der Organverteilung zu erwarten war. Nach 4 Stunden betrug der Anteil an TAA-^{35}SO in der Leber im Durchschnitt 9,78 %, im Urin 82,8 % der Gesamtaktivität. Daraus wurde eine bessere Nierengängigkeit von TAA-SO gefolgert, die auch bei den 24-Stunden-Versuchen und der Untersuchung aller Urineinzelportionen deutlich zu sehen war. Die ausgeschiedene Aktivitätsmenge lag zwischen 66 % und 75 % der applizierten Dosis. Thioacetamid-^{35}S wurde nur zu 2,3 % bzw. 2,6 % unverändert im 24-Stunden-Urin gefunden, als $^{35}SO_4$ wurden 16,5 % bzw. 17,9 % und als TAA-^{35}SO 47,9 % bzw. 48,6 % ausgeschieden.

Auch in tiefer Hypothermie, Rektaltemperatur 25°C, änderte sich an der Metabolitenverteilung nichts wesentliches. Es wurden ^{35}S-TAA, TAA-^{35}SO und $^{35}SO_4$ gefunden, TAA-^{35}SO machte wiederum den Hauptanteil der ausgeschiedenen Substanz aus. Nur die insgesamt mit dem Urin eliminierte Aktivitätsmenge lag deutlich unter der in Normothermie. Die histologischen Untersuchungen ergaben lichtmikroskopisch sowohl bei den mit TAA als auch bei den mit TAA-SO behandelten Tieren in Hypothermie keine Lebernekrosen. In Normothermie erschienen die Schäden nach TAA-SO ausgedehnter als nach gleicher Dosis TAA.

Es wird diskutiert, warum TAA-SO als die eigentlich schädigende Substanz angesehen wird und welcher mögliche Wirkungsmechanismus bestehen könnte.

VIII LITERATURVERZEICHNIS

1.) AMBROSE A.M., DE EDS F., RATHER L.J.:
Toxicity of Thioacetamide in Rats
J. of Industrial Hygiene and Toxicology, 31; 158 - 161, 1949

2.) AMMON R., BERNINGER H., HAAS H.J. und LANDSBERG J.:
Thioacetamid-sulfoxid, ein Stoffwechselprodukt des Thioacetamids
Arzneimittelforschung 17. Jahrgang, Heft 5, S.321-323, 1967

3.) ASHWORTH C.T., WERNER J.D. and WRIGHTMAN F.J.:
Effect of Thioacetamide-Induced Sublethal Hepatic Cell Injury on Protein Synthesis
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119; 495-501, 1965

4.) BARTON A.D., CERNY E.A., TRACY K.M.:
Effects of Administration of Thioacetamide or Testosterone on Chromosome - Associated Proteins in Rat Liver and Kidney
Arch. Biochem. 109; 36-40, 1965

5.) BARTON A.D., ANDERSON E.C.:
Effects of Administration of Thioacetamide on Chromosome-Associated Proteins in Rat Liver
Arch. Biochem. 111; 206-208, 1965

6.) BECKER K.:
Zum Prolineinbau bei experimenteller Leberfibrose
(On the Proline Incorporation in Experimental Fibrosis of the Liver)
Acta Hepatosplen. (Stuttgart) 14; 42-48, 1967

7.) BECKER V., WALTER W.:
Die Wirkung von Thioacetylverbindungen auf das Leberparenchym im Tierexperiment
Acta Hepatosplen. (Stuttgart) 12; 129-140, 1965

8.) BECKETT A.H., HEWICK D.S.:
The N-oxidation of chlorpromazine in vitro- the major metabolic route using rat liver microsomes
J. Pharm. Pharmacol. 19, Nr. 2; 134-136, 1967

9.) BRODEHL J.: Thioacetamid in der experimentellen Leberschädigung
Klin. Wschr. 39; 956-962, 1961

10.) CLEVELAND P.D., SMUCKLER E.A.:
Effect of CCl_4, Dimethylnitrosamine, and Thioacetamide on Hepatic DPNH and TPNH Cytochrome C Reductase
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120; 808-810, 1965

11.) CLIFFORD J., REES K.R.:
Biochemical Changes in the Endoplasmatic Reticulum in Liver Injury
J. Path. Bact. 91; 215-222, 1966

12.) DORSAY T., LOFBERG R.T,MAHIN D.T.:
A simplified Method of Sample Preparation for Determination of Tritium. Carbon-14 or Sulfur-35 in Blood or Tissue by Liquid Scintillation Counting
Analytical Biochem. 16; Nr. 3, 1966

13.) EDER M., BUTENAND D., JOSTEN R.:
Morphologische, histochemische und autoradiographische Untersuchungen zur akuten und chronischen Thioacetvergiftung
Frankfurt Z. Path. 74; 599-619, 1965

14.) FARE G.: The Effect of Dietary Copper on Changes in Rat Liver Associated with Chronic Thioacetamide Poisoning
Amer. J. Path., 46; 111-119, 1965

15.) FITZHUGH O.G., NELSON A.A.:
Liver Tumors in Rats Fed Thiourea or Thioacetamide
Science 108; 626-628, 1948

16.) GALLAGHER L.H., GUPTA D.N., JUDAH J.D., REES K.R.:
Biochemical Changes in Liver in Acute Thioacetamide Intoxication
J. Path. Bact. 72; 193-201, 1956

17.) GUPTA D.N.: Acute Changes in the Liver after Administration of Thioacetamide
J. Path. Bact. 72; 183-192, 1956

18.) GUPTA D.N.: Nodular Cirrhosis and Metastasising Tumors Produced in the Liver of Rats by Prolonged Feeding with Thioacetamide
J. Path. Bact. 72; 415-426, 1956

19.) HIRAYAMA Zur Biochemie des Leberbindegewebes während der Entwicklung einer durch Thioacetamid bei Ratten induzierten Leberfibrose
Acta Hepatosplen. (Stuttgart) 8; 102- 109, 1961

20.) HRUBAN Z., GRADMAN W., SLESERS A., LUBRAN N.:
Toxity of Thioacetamide
Lab. Invest. 15; 1748-1760, 1966

21.) JUDAH, J.D., AHMED K., MCLEAN E.M.:
Protection Provided against Carbon Tetrachloride and Thioacetamide Poisoning by Strophanthin-G
J. Path. Bact. 89; 619-623, 1965

22.) KENDREY G.: Über das Verhalten der Nucleolen von Leberzellen bei Thioacetamid-Vergiftung
Acta Morph. Acad. Sci. Hung. 12; 407-413, 1964

23.) KIZER D.E., SHIRLEY B.C., COX B., HOWELL B.A.:
Effect of Thioacetamide on Adenylic Acid Deaminase Activity and Nuclear Ribonucleic Acid Metabolism in Rat Liver
Cancer Res. 25; 596-603, 1965

24.) KIZER D.E., HOWELL B.A., CLOUSE J.A., SHIRLEY B.C.:
Studies on the Relationship between Increased Adenylic Acid Deaminase Activity and Changes in Nuclear RNA Metabolism in Rat Liver Caused by Thioacetamide
Cancer Res. 26; 1376-1382, 1966

25.) KIZER D.E., CLOUSE J.A.:
Effects of Hepatocarcinogens on the Synthesis and Content of Rat Liver Nuclear RNA
Cancer Res. 28; 502-509, 1968

26.) KLEINFELD R.G.:
Early Changes in Rat Liver and Kidney Cells Induced by Thioacetamide
Cancer Res. 17; 954-962, 1957

27.) KUME F., CHIGA M.:
Inhibition of the Actinomycin-Induced Nucleolar Change by Thioacetamide in Mouse Hepatic Parenchymal Cell
Lab. Invest. 17; 767-771, 1967

28.) MALOOF F., SOODAK M:
Thioacetamide, an Anti-Thyroid Compound
Endocrinology 68; 125-129, 1961

29.) MCGEACHIN R.L., CASE P.H.:
Thioacetamide Inhibition of Liver and Serum Amylase Production
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127; 985-987, 1968

30.) MEYER J. G.: Über RNS-Veränderungen in der Rattenleber unter Thioacetamid-Applikation
Z. Naturforschg., 21 b; 342-351, 1966

31.) MIRONESCU St.: Mitotic Abnormalities in Proliferating Hepatocytes Induced by Thioacetamide at certain Periods after Partial Hepatectomy
Exptl. Cell Res. 55; 435-437, 1969

32.) MIRONESCU St., ENCUT I., MIRONESCU K., LICIU F.:
Nucleolar Behavior in Regeneratin Liver of Rats Receiving Intra-Abdominal Injections of Azo Dyes and Thioacetamide
J. Nat. Cancer Inst. 40; 917-933, 1968

33.) MOLNAR Z., VARGA F.:
The Effect of Hypothermia on Thioacetamide-Induced Hepatic Damage
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 34; 95-101, 1968

34.) NARAYAN K.S., STEELE W.J., BUSCH H.:
Evidence that the Granular and Fibrillar Components of Nucleoli Contain 28 and 6 S RNA, Respectively
Exp. Cell. Res. 43; 483-492, 1966

35.) NEUBERT D.: Beeinflussung des Nucleinsäure- und Proteinstoffwechsels durch Pharmaka
Internist (Berlin) 7; 435-454, 1966

36.) NYGAARD O., ELDJARN L., NAKKEN K.F.:
Studies on the Metabolism of Thioacetamide-S^{35} in the Intact Rat
Cancer Res. 14; 625-628, 1954

37.) PLATT D.S., COCKRILL B.L.:
Biochemical Changes in Rat Liver in Response to Treatment with Drugs and other Agents II
Biochem. Pharmacol. 18; 445-457, 1969

38.) QUINN P.S., HIGGINSON J.:
Reversible and Irreversible Changes in Experimental Cirrhosis
Amer. J. Path. 47; 353-369, 1965

39.) REES K.R., SINHA K.P.:
Blood Enzymes in Liver Injury
J. Path. Bact. 80; 297-307, 1960

40.) REES K.R., SINHA K.P., SPECTOR W.G.:
The Pathogenesis of Liver Injury in Carbon Tetrachloride and Thioacetamide Poisoning
J. Path. Bact. 81; 107-118, 1961

41.) REES K.R., SHOTLANDER V.L.:
Hepatic Cell Injury
Biochem. Clin. 3; 181-188, 1964

42.) REES K.R., SHOTLANDER V.L.:
Changes in Lipid Metabolism During the Development of the Fatty Liver
Brit. J. Exp. Path. 45; 364-374, 1964

43.) REES K.R., ROWLAND G.F. and VARCOE J.S.:
The Metabolism of Tritiated Thioacetamide in the Rat
Int. J. Cancer 1; 197-206,1966

44.) REMMER H.: Die Elimination von Arzneimitteln durch enzymatischen Abbau in der Leber
Internist 7. Jg., Heft 8
413-418, 1966

45.) SACHS H.W., BÄUMER A., MENKHAUS G.:
Histochemische Untersuchungen zur Giftwirkung des Thioacetamids auf die Rattenleber
Acta Hepatosplen. (Stuttgart) 6;
286- 298 ,1959

46.) SAPRE N.N., SUNANDA V., GOTHOSKAR, BHIDE S.V.:
Organ Specific Effect of Thioacetamide on Liver Glycogen
Indian J. Exp. Biol. 7; 4-7, 1969

47.) SCHLICHT I.: Autoradiographische Untersuchungen der Verteilung von S^{35}-Thioacetamid
Aktuelle Gastroenterologie, G. Thieme Verlag Stuttgart, 298-300, 1968

48.) SCHLICHT I.: Untersuchungen über die experimentelle Leberdystrophie in Hypothermie
Habilitationsschrift 1970

49.) SCHLICHT I.: Autoradiographische und radiochromatographische Untersuchungen der Verteilung und des Stoffwechsels von Thioacetamid
Naunyn Schmiedebergs Archiv Pharmak.
268; 310-322, 1971

50.) SCHLICHT I.: Die experimentelle Leberdystrophie in protrahierter Hypothermie. Untersuchungen mit Tetrachlorkohlenstoff und Thioacetamid. Z. ges. exp. Med. 156; 183-194, 1971

51.) SHEAS S.M., MANSEAU E.J.: Experimental Toxic Cirrhosis in the Rat.II. Kinetics of Hepatocyte Proliferating During Intermittent Thioacetamide Intoxication Amer. J. Path. 52; 55-68, 1968

52.) SICKINGER K., WINTER H., WOLF H.P., CREUTZFELD W.: Der Einfluß eines relativen Vitamin C Mangels und die Entwicklung der Thioacetamid-Leberfibrose beim Meerschweinchen Z. Ges. Exp. Med. 141; 21-32, 1966

53.) SLATER T.F., GREENBAUM A.L.: Changes in Lysomal Enzymes in Acute Experimental Liver Injury Biochem. J. 96; 484-491, 1965

54.) SLATER T.F., SAWYER B.C. : Liver Nucleotides in Acute Experimental Liver Injury induced by Dimethylnitrosamine and by Thioacetamide Biochem. J. 101; 19-23, 1966

55.) STEELE W.J., BUSCH H.: Increased Content of High Molecular Weight RNA Fractions in Nuclei and Nucleoli of Livers of Thioacetamide-Treated Rats Biochem. Biophys. Acta 119; 501-509, 1966

56.) STERN P., KULJAK S.: Tremor Induction in Mice and its Modification Europ. J. Pharmacol. 5; 343-347, 1969

57.) STÖCKER E., ALTMANN H.W.: Die Größe des Nucleolus und die Nucleolus-Karyoplasma-Relation als Ausdruck synthetischer Aktivitäten. Autoradiographische Untersuchungen an Leberzellen normaler und Thioacetamid behandelter Ratten. Z. Krebsforsch. 65; 351-377, 1963

58.) STÖCKER E.: Autoradiographische Studien zum Einfluß von Thioacetamid auf den zellulären Eiweiß- und Nucleinsäurestoffwechsel in Leberzellen der Ratte
Beitr. Path. Anat. 129; 247-295, 1964

59.) STÖCKER E.: Autoradiographische Untersuchungen zur funktionellen und pathologischen Kernschwellung in der Rattenleber nach Fütterung von Thioacetamid
Z.Zellforsch. 62; 80-97, 1964

60.) STÖCKER E., YOKOYAMA T.:
Autoradiographische Studien zum Einfluß von Thioacetamid auf die RNS-Migration und DNS-Synthese verschiedener parenchymatöser Zellen der Ratte.
Beitr. Path. Anat. 134; 1-28, 1966

61.) THOENES W., BANNASCH P.:
Elektronen- und Lichtmikroskopische Untersuchungen am Cytoplasma der Leberzellen nach akuter und chronischer Thioacetamid-Vergiftung.
Virchows Arch. Path. Anat. 335; 556-583, 1962

62.) VARGA F., MOLNAR Z.:
Changes in Sodium, Potassium and Calcium Content of the Liver and Blood Serum in Acute and Subacute Experimental Hepatic Injury
Acta Physiol. Hung. 28; 389-398, 1965

63.) VILLALOBOS J.G.Jr., STEELE W.J., BUSCH H.:
Effects of Thioacetamide on Labeling of Ribonucleic Acid of Isolated Nucleoli in Vitro
Biochem. Biophys. Acta 91; 233-238, 1964

64.) VILLALOBOS J.G.Jr., STEELE W.J., BUSCH H.:
Increased Ribonuclease Activity of Nuclei of Liver Cells of Thioacetamide-Treated Rats.
Biochem. Biophys. Res.Commun. 17; 723-729, 1964

65.) VILLALOBOS J.G.Jr., STEELE W.J., BUSCH H.:
Ribonuclease Activity of Isolated Nucleoli of Livers of Thioacetamide-Treated Rats
Biochem. Biophys. Acta 103; 195-200, 1965

66.) VORBRODT A., STEPLEWSKI Z., KRZYZOWSKA-GRUCA S.:
The Effect of Thioacetamide on the Rat Liver Parenchyma Cells
Folia Histochem. Cytochem. (Krakow) 4; 7-20, 1966

67.) VORBRODT A., STEPLEWSKI Z., KRZYZOWSKA-GRUCA S.:
Electron Histochemical Investigations of the Effect of Thioacetamide on the Regenerating Rat Liver Cell
Folia Histochem. Cytochem. (Krakow) 4; 157-162, 1966

68.) VORBRODT A., VORBRODT K., KRZYZOWSKA-GRUCA S., STEPLEWSKI Z., CHORAZY M.:
Cytophotometric and Cytochemical Studies on the Effect of Actinomycin and Thioacetamide on Rat Liver Cells
Arch. Immun. Ther. Exp. 14; 818-825, 1966

69.) VORBRODT K.: Microinterferometric and Cytophotometric Studies on the Effect of Nuclei and Nucleoli of Parenchymal Cells of the Rat Liver
Folia Histochem. Cytochem. (Krakow) 4; 179-194, 1966

70.) WALTER W.: Oxydationsprodukte von Thiocarbonsäureamiden. I. Thioacetamid-S-Oxyd
Liebigs Ann. Chem. 633; 35-49, 1960

71.) WIEDERMANN G., REINHARDT F., DENK H.:
Serumfaktoren bei thioacetamidvergifteten Ratten
Z. Immunitätsforsch., 131; 366-375, 1966

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. I. Schlicht
für die Überlassung eines Themas aus ihrem Arbeitsbereich,
Herrn Prof. Dr. med. K. Oeff für die Übernahme der Arbeit
und ihre freundliche Unterstützung.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch Herrn Dipl. Chem. W. Darge
für seine Hilfe bei der Synthese von TAA-SO und
Fräulein C. Eulenstedt für die Anfertigung der histologischen
Präparate.

Lebenslauf

Am 24. Februar 1942 wurde ich, Heinrich Emde, in Korbach Kreis Waldeck als Sohn des Schriftleiters Heinrich Emde und seiner Ehefrau Helena geb. Augustiny geboren.
Von 1949 bis 1953 besuchte ich die Grundschule in Korbach. In den Jahren 1953 bis 1962 war ich Schüler des humanistischen Zweiges des Gymnasiums Alte Landesschule Korbach, das ich mit dem Zeugnis der Reife verließ.

Von 1962 bis 1964 war ich als Soldat auf Zeit Angehöriger der Bundeswehr.

Im Sommersemester 1964 begann ich mit dem Medizinstudium an der Freien Universität Berlin und legte hier am 4. August 1970 die ärztliche Prüfung ab. Meine Medizinalassistentenzeit absolvierte ich an der Medizinischen Klinik des Klinikums Westend, der Chirurgischen Klinik und der Nuclearmedizinischen Abteilung des Klinikums Steglitz der Freien Universität Berlin.

Am 29. Dezember 1971 erhielt ich die Approbation als Arzt. Seit 15. Januar 1972 bin ich Wissenschaftlicher Assistent des Strahleninstituts und der Strahlenklinik der Freien Universität Berlin im Klinikum Westend.

B. Ladewig · Dissertationsdruck · 1 Berlin 12 Pestalozzistraße 106
Tel.: 312 88 85 - 313 81 98